

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07K 16/18, G01N 33/574, 33/68		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/32772
		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:	30. Juli 1998 (30.07.98)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/00085		(81) Bestimmungsstaaten: BR, CA, CN, HU, IL, JP, KR, NO, RU, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 9. Januar 1998 (09.01.98)			
(30) Prioritätsdaten: 197 02 065.8 22. Januar 1997 (22.01.97) DE		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT MAINZ [DE/DE]; Forum Universitatis 3, D-55099 Mainz (DE).			
(72) Erfinder; und			
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KURZIK-DUMKE, Ursula [DE/DE]; Saarstrasse 21, D-55122 Mainz (DE).			
(74) Anwalt: KEIL & SCHAAFHAUSEN; Eysseneckstrasse 31, D-60322 Frankfurt am Main (DE).			
(54) Title: POLYCLONAL ANTIBODY FOR DETECTING THE TUMOUR-ASSOCIATED ANTIGEN hTid			
(54) Bezeichnung: POLYKLONALER ANTIKÖRPER ZUM NACHWEIS DES TUMORASSOZIIERTEN ANTIGENS hTid			
(57) Abstract			
<p>The invention concerns a polyclonal antibody as an agent for detecting the tumour-associated antigen hTid, this polyclonal antibody being obtained by immunization with a polypeptide according to the sequence protocol (SEQ ID No. 1) Glu-Ala-Tyr-Glu-Val-Leu-Ser-Asp-Lys-His-Lys-Arg-Glu-Ile-Tyr-Asp or with a protein comprising this amino acid sequence in a form which is identical or modified but immunologically equivalent.</p>			
(57) Zusammenfassung			
<p>Polyklonaler Antikörper als Mittel zum Nachweis des tumorassoziierten Antigens hTid, erhältlich durch Immunisierung mit einem Polypeptid gemäß dem Sequenzprotokoll (SEQ ID Nr. 1) Glu-Ala-Tyr-Glu-Val-Leu-Ser-Asp-Lys-His-Lys-Arg-Glu-Ile-Tyr-Asp oder mit einem Protein, das diese Aminosäuresequenz in identischer oder abgewandelter, jedoch immunologisch gleichwertiger Form aufweist.</p>			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauritanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
ER	Äthiopien						

- 1 -

5 **Polyklonaler Antikörper zum Nachweis des tumorassoziierten Antigens hTid**

10 Gegenstand der Erfindung ist ein polyklonaler Antikörper zum Nachweis des tumorassoziierten Antigens hTid aus der Klasse der DnaJ Chaperone.

15 Es ist bekannt, daß neoplastische Transformationen von Zellen und Geweben kein für den Menschen spezifisches Phänomen darstellen. Die Entstehung von Tumoren, sowohl benignen als auch malignen, ist in verschiedenen tierischen Spezies und in Pflanzen beschrieben. Es ist heute gesichert, daß der Ursprung neoplastischer Entartungen auf der DNA-Ebene zu suchen ist.

20 Erst vor einigen Jahren konnte jedoch die Rolle von spezifischen Genen bei der Krebsentstehung auf molekularer Ebene gezeigt werden.

25 Die Analyse der in Wirbeltieren bekannten Tumore zeigt, daß neoplastische Entartungen entweder aus der Aktivierung der dominanten zellulären Oncogene oder aus der Inaktivierung der recessiven Tumorsuppressorgene resultieren. Im aktiven Zustand üben die Tumorsuppressorgene zahlreiche Funktionen wie Zelldifferenzierung, Zellkommunikation, Zelladhäsion,

30 Wachstumshemmung, Regulation der Transkription, Apoptose und Hemmung der DNA-Synthese aus. Verlieren die Tumorsuppressorgene jedoch infolge von spezifischen Mutationen ihre Aktivität, treten neoplastische Transformationen auf. Diese Vorgänge sind zunächst bei der Fruchtfliege *Drosophila*

35 *melanogaster* beobachtet (1) und wissenschaftlich untersucht

- 2 -

- worden (2). Dabei wurde erkannt, daß recessive Mutationen des *Drosophila melanogaster* Tumorsuppressorgens *lethal(2)tumorous imaginal discs (l(2)tid)* zu neoplastischen Entartungen der Imaginalscheiben, die die Anlagen der adulten Organe sind, führen. Durch die Mutation des Tumorsuppressorgens *l(2)tid* geht in den Imaginalscheiben von *Drosophila* die Fähigkeit zur Zelldifferenzierung verloren, ohne daß die Fähigkeit zur Zellteilung beeinträchtigt wird.
- 10 Weitere Untersuchungen haben gezeigt, daß das von dem Tumorsuppressorgen *l(2)tid* kodierte Genprodukt, das Tid56 Protein, eine signifikante Homologie zu den in der Evolution streng konservierten DnaJ Chaperonen zeigt, die aus einer Vielzahl von Organismen und auch beim Menschen bekannt sind.
- 15 Zu den an den Entfaltungs- und Rückfaltungsvorgängen von Proteinen beteiligten Chaperonen gehören auch die sogenannten Hitzeschock-Proteine (Hsp). Trotz des hohen Konservierungsgrades der DnaJ homologen Proteine von Bakterien bis zum Menschen mußte es nach den bisherigen wissenschaftlichen
- 20 Erkenntnissen als unwahrscheinlich erscheinen, daß die Aufklärung der Wirkungen des *Drosophila*-Proteins Tid56 als Tumorsuppressor einen Hinweis auf ähnliche Funktionen der humanen DnaJ homologen Proteine (HDJ-1 und HSJ-1) als molekulare Chaperone geben könnte, da zur Funktion dieser
- 25 humanen Proteine bisher keine Daten vorliegen.

- Die Frage, ob die beim Studium der Tumorbildung und Tumorsuppression bei *Drosophila melanogaster* gewonnen Erkenntnisse auch auf den Menschen übertragen werden können, läßt sich nur dann benatworten, wenn ein dem Tumorsuppressor Tid56 der *Drosophila* entsprechender Tumorsuppressor beim Menschen gefunden wird. Es stellte sich deshalb die Aufgabe, ein hierfür geeignetes diagnostisches Mittel zu entwickeln.
- 30

- 3 -

Es wurde nun gefunden, daß ein polyklonaler Antikörper
erfindungsgemäß zur Verfügung gestellt werden kann, der durch
Immunisierung, beispielsweise einer Maus oder eines Kanin-
chens, mit einem Polypeptid gemäß dem Sequenzprotokoll (SEQ
5 ID Nr. 1)

Glu-Ala-Tyr-Glu-Val-Leu-Ser-Asp-Lys-His-Lys-Arg-Glu-Ile-Tyr-
Asp

10 oder mit einem Protein, das diese Aminosäuresequenz in
identischer oder abgewandelter, jedoch immunologisch gleich-
wertiger Form aufweist, erhältlich ist.

Das vorstehend genannte Peptid SEQ ID Nr. 1 repräsentiert die
15 DnaJ-Domäne des HSJ-1a Proteins und entspricht dem am höchsten
konservierten Teil der J-Domäne aller bisher bekannten DnaJ-
ähnlichen Proteine. Der damit nach üblichen Verfahren
hergestellte polyklonale Antikörper hTid erkennt nun überra-
schenderweise ebenso wie ein weiterer polyklonaler Antikörper,
20 der gegen das Drosophila melanogaster Protein Tid56 gerichtet
ist, beim "Western"-Blotting das 50kDa Protein, das das
menschliche Homologe zu dem Drosophila melanogaster Protein
Tid56 ist.

25 Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein ELISA-Nachweis-
verfahren für das tumorassoziierte Antigen hTid, bei dem man

(1) eine Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit an
einen festen Träger bindet,

30

(2) das auf dem Träger gebundene Antigen mit einem
polyklonalen Antikörper behandelt, der durch
Immunisierung mit einem Polypeptid gemäß dem
Sequenzprotokoll (SEQ ID Nr. 1) oder mit einem
35 Protein, das die Aminosäuresequenz in identischer

- 4 -

oder abgewandelter, jedoch immunologisch gleichwertiger Form aufweist, wodurch der polyklonale Antikörper an das nachzuweisende Antigen gebunden wird,

5

- (3) dann einen Antikörper zugibt, der an den primären Antikörper spezifisch bindet und mit einem Enzym verknüpft ist, das die Umwandlung eines farblosen Substrats in ein farbiges Produkt katalysiert und

10

- (4) das farblose Substrat zugibt und die entstehende Färbung mißt.

Mit diesem Verfahren kann in einfacher und eindeutiger Weise
15 das humane hTid-Protein nachgewiesen werden, das bei bestimmten Krebserkrankungen, nämlich dem Adenocarcinom des Dickdarms und des Endometriums als auch bei Brust-, Lungen- und Cervixcarcinomen exprimiert wird. Dagegen wurde dieses Protein bei anderen Erkrankungen, wie einem humanen Sarkom, einem
20 Lymphom oder einem Melanom nicht nachgewiesen.

Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele näher erläutert:

25 **Beispiel 1: Herstellung des anti-hTid Antikörpers und anderer erfindungsgemäßer Antikörper**

Ein polyklonales Kaninchenantiserum gegen das Peptid der SEQ ID Nr. 1 des Sequenzprotokolls gekoppelt an Hämocyanin über
30 einen N-terminal zugefügten Cysteinrest wurde nach der Festphasenmethode von Merrifield in der Modifikation wie sie von Houghten et al. beschrieben ist, hergestellt (3), in an sich bekannter Weise gereinigt, in 0,9% NaCl gelöst und mit einem gleichen Volumen des unvollständigen Freundschens
35 Adjuvans emulgiert, um eine Endkonzentration von 1 mg/ml zu

- 5 -

ergeben. 1 ml der frisch hergestellten Mischung wurde zur Immunisierung von Kaninchen eingesetzt. Die Injektionen wurden im Abstand von 3 x 3 Wochen durchgeführt und 1 Woche nach der letzten Injektion Blut entnommen. Nach Entfernung der ganzen Zellen durch Zentrifugieren wurde das Antiserum gesammelt und bei -20° C aufbewahrt. Die Empfindlichkeit des polyklonalen Serums wurde mit dem Enzym gekoppelten Immunnachweis (ELISA) durchgeführt (s Beispiel 2). Die Antikörper wurden durch Affinitätschromatographie auf CNBr-aktivierten Sepharose 4B Säulen (Biotech, Freiburg) gereinigt. Der polyklonale Kaninchen anti-Tid Antikörper gegen das Drosophila melanogaster l(2)tid Protein wurde nach dem Verfahren hergestellt, das von Kurzik-Dumke et al. beschrieben ist (4).

15 Beispiel 2: ELISA Test

Mikrotiterplatten wurden mit einer Proteinprobe beschichtet, die auf das Vorliegen des tumorassoziierten Antigens hTid geprüft werden sollte. In jede Vertiefung der Mikrotiterplatte wurde die Probe zusammen mit einer phosphatgepufferten Salzlösung (PBS) bei einem pH 7,5 und 4°C gegeben und über Nacht stehen gelassen. Nach dem Auswaschen mit phosphatgepufferter Salzlösung wurde die Mikrotiterplatte 1 Stunde bei Zimmertemperatur mit einer 3%-igen BSA-Lösung (= Bovine Serum Albumin) in PBS versetzt. Nach dreimaligem Waschen mit PBS wurden die Verdünnungen in gepufferter Lösung (PBS mit 0,3% BSA) in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben. Nach zweistündiger Inkubation bei Raumtemperatur und Waschen mit PBS wurde der sekundäre Antikörper [Kaninchen-anti-IgG gekoppelt mit alkalischer Phosphatase (AP) (Sigma)] verdünnt im Verhältnis 1 : 5.000 in Pufferlösung in jede Vertiefung gegeben. Nach dem Auswaschen des nicht gebundenen Antikörpers wurde die alkalische Phosphatase mit einer Mischung von 0,45% des Nitroblau-Tetrazoliums Salzes (NTB) (Serva, Heidelberg) und 0,35% Brom-4-chlor-3-indolyl-phosphat-toluidiniumsalzes (X-

- 6 -

Phosphat) (Serva) in AP-Puffer (100 mM NaCl, 50 mM MgCl₂, 100 mM Tris, pH 9,2) gegeben. Die Absorption jeder Probe wurde bei einer Wellenlänge von 405 nm automatisch aufgezeichnet.

5 **Beispiel 3: Proteinanalyse durch Western-Blotting**

Rohe Proteinextrakte aus menschlicher Leber, dem Dickdarm und der Lunge wurden durch Gewebekomogenisierung in einer phosphatgepufferten Salzlösung (PBS) hergestellt und durch
10 Zentrifugierung in zwei Fraktionen aufgetrennt, wobei die obere Schicht frei von Zellkernen war und die untere Schicht Zellkerne und Zelltrümmer enthielt. Alle Maßnahmen wurden bei 4°C durchgeführt. Die Fraktionen wurden dann mit dem Protease
15 Inhibitor Cocktail von Boehringer versetzt und entweder sofort für die Analyse eingesetzt oder bei -70°C vor der weiteren Verwendung aufbewahrt. In allen Geweben und Zellfraktionen wurde der Proteingehalt spektrophotometrisch nach der Methode von Bradford (5) bestimmt.

20 Der Nachweis des hTid-Proteins in den wie oben hergestellten Protein-Extrakten wurde dann unter denaturierenden Bedingungen mit Hilfe der SDS-PAGE Elektrophorese nach üblichen Bedingungen durchgeführt. Nach Übertragung auf eine Polyvinylfluorid (PVDF) Membran (Immobilien-P, Millipore-Corporation, Milford,
25 U.S.A.) wurde mit dem primären polyklonalen anti-hTid Antikörper (s. Beispiel 1) inkubiert und der Immunnachweis mit Hilfe eines sekundären Antikörpers, wie oben beschrieben, durchgeführt.

30 **Beispiel 4: Immunhistochemische Untersuchungen von menschlichem Gewebe und lichtmikroskopische Auswertung**

Operativ entferntes menschliches Gewebe wurde in Formalin (4%)
35 fixiert und in Paraffin eingelagert, wie es in histopathologi-

- 7 -

schen Laboratorien üblich ist. Zur Immunmarkierung wurden Gewebeabschnitte von 3 µm Durchmesser benutzt und der polyklonale Kaninchen Antikörper anti-hTid und der Anti-Tid Antikörper gegen das Protein Tid56 von *Drosophila melanogaster* eingesetzt. Die Antikörper Nachweisreaktion wurden grundsätzlich mit dem Avidin-Biotin/Meerrettich-Peroxidase Komplex (ABC/HRP) (Vectastain Elite PK-6102, Camon-Labor Service GmbH, Wiesbaden) nach dem vom Hersteller beschriebenen Verfahren durchgeführt.

10

Literaturzusammenstellung

- (1) Kurzik-Dumke, U. 1995. Genetische und molekulare Analyse des *Drosophila melanogaster* Tumorsuppressorgens lethal(2)tumorous imaginal discs (l(2)tid). BIOSCOPE 4/95, Seite 26 bis 32.
- (2) Kurzik-Dumke, U., Gundacker, D., Rentrop, M., and Gateff, E. 1995. Tumor Suppression in *Drosophila* Is Causally Related to the Function of the lethal(2)tumorous imaginal discs Gene, a dnaJ Homolog. Developmental Genetics 16:64-76 (1995).
- (3) Houghten, R., Chang, W., Li, C. Human beta endorphin. Synthesis and characterization of analogs iodinated and tritiated at tyrosine residues 1 and 27. Int. J. Pept. Protein Res. 16, 311-315, 1980.
- (4) Kurzik-Dumke, U., Debes, A., Kaymer, M. Mitochondrial localization and temporal expression of the *Drosophila melanogaster* DnaJ homologous tumor suppressor Tid 56, in preparation.
- (5) Bradford, M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utili-

- 8 -

zing the principle of protein-dye binding. Aual. Bio-
chem. 72, 248-254, 1976.

- 9 -

Sequenzprotokoll**5 Allgemeine Angaben**

Anmelder: Dr. Ursula Kurzik-Dumke
Institut für Genetik
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
10 55122 Mainz
Bundesrepublik Deutschland
Tel.: 06131/39 58 44
Fax : 06131/ 39 58 45

15 Bezeichnung der Erfindung:

Polyklonaler Antikörper zum Nachweis
des tumorassoziierten Antigens hTid

20 Anzahl der Sequenzen: 1

Zustellanschrift: Patentanwälte
Dr. Rainer A. Keil
Ludwig R. Schaafhausen
25 Nanno M. Lenz
Dr. K.-H. Meyer-Dulheuer
Eysseneckstraße 31
60322 Frankfurt am Main

30 Computerlesbare Fassung:

Datenträger : Diskette
Computer : IBM PC compatible
Operating System: PC-DOS/MS-DOS
35 Software : Word Perfect 6.0

- 10 -

Angaben zur SEQ. ID-No. 1:

Länge: 16 Aminosäuren

Art : Polypeptid

5

Herkunft: Chemische Synthese; inneres Fragment
aus der DnaJ-Domäne des humanen HSJ-
1a Proteins

10 Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 1:

Glu-Ala-Tyr-Glu-Val-Leu-Ser-Asp-Lys-His-Lys-Arg-Glu-Ile-Tyr-
Asp

- 11 -

Patentansprüche:

5 1. Polyklonaler Antikörper zum Nachweis des tumorassoziier-
ten Antigens hTid, dadurch gekennzeichnet, daß er durch
Immunisierung mit einem Polypeptid gemäß Sequenzprotokoll (SEQ
ID Nr. 1)

10 Glu-Ala-Tyr-Glu-Val-Leu-Ser-Asp-Lys-His-Lys-Arg-Glu-Ile-Tyr-
Asp

oder mit einem Protein, das diese Aminosäuresequenz in
identischer oder abgewandelter, jedoch immunologisch gleich-
15 wertiger Form aufweist, erhältlich ist.

2. Polyklonaler anti-hTid-Antikörper, dadurch gekenn-
zeichnet, daß er gegen das PolyPeptid mit der Aminosäurese-
quenz von Anspruch 1 durch Immunisierung im Kaninchen
20 erhältlich ist.

3. Polyklonaler anti-Tid-Antikörper, dadurch gekennzeichnet,
daß er gegen das Drosophila melanogaster Protein Tid56 durch
Immunisierung im Kaninchen erhältlich ist.

25 4. Diagnostisches ELISA-Nachweisverfahren für das tumo-
rassozierte Antigen hTid, dadurch gekennzeichnet, daß man

30 (1) eine Probe der zu untersuchenden Körperflüssigkeit
oder des Gewebeextraktes an einen festen Träger
bindet,

(2) das auf den Träger gebundene Antigen mit einem
polyklonalen Antikörper behandelt, der durch
35 Immunisierung mit einem Polypeptid gemäß dem

- 12 -

Sequenzprotokoll (SEQ ID Nr. 1) oder mit einem Protein, das die Aminosäuresequenz in identischer oder abgewandelter, jedoch immunologisch gleichwertiger Form aufweist,

5

- (3) dann einen sekundären Antikörper zugibt, der an den primären Antikörper spezifisch bindet und mit einem Enzym verknüpft ist, das die Umwandlung eines farblosen Substrates in ein farbiges Produkt katalysiert und

10

- (4) das farblose Substrat zugibt und die entstehende Färbung mißt.

15

5. Verwendung des diagnostischen Mittels gemäß Anspruch 1 zur Erkennung von Körperzellen mit pathologisch veränderter Expression des Proteins hTid.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. .onal Application No

PCT/EP 98/00085

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07K16/18 G01N33/574 G01N33/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	M. CHEETHAM ET AL.: "Human homologues of the bacterial heat-shock protein DnaJ are preferentially expressed in neurons." THE BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 284, 1992, LONDON, GB, pages 469-476, XP002065472 see abstract see figure 1	1-5
A	U. KURZIK-DUMKE ET AL.: "Tumor suppression in Drosophila is causally related to the function of the lethal (2) tumorous imaginal discs gene, a DnaJ homolog." DEVELOPMENTAL GENETICS, vol. 16, no. 1, 1995, NEW YORK, NY, USA, pages 64-76, XP002065473 see the whole document	1-5
-/-		

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 May 1998

Date of mailing of the international search report

08. 07. 1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Nooij, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/00085

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	U. KURZIK-DUMKE ET AL.: "Genetic, cytogenetic and developmental analysis of the Drosophila melanogaster tumor suppressor gene lethal (2) tumorous imaginal discs (1(2)tid)." DIFFERENTIATION, vol. 51, no. 2, October 1992, LONDON, GB, pages 91-104, XP002065474 see the whole document ---	1-5
A	EP 0 652 232 A (HEALTH RESEARCH INC) 10 May 1995 see the whole document ---	1-5
P,X	U. KURZIK-DUMKE ET AL.: "A preliminary study of the expression of the human hTid protein, a homolog of the Drosophila melanogaster tumor suppressor Tid56, in various tumors." THE CANCER JOURNAL, vol. 10, no. 1, 1997, VILLEJUIF, FRANKREICH, pages 56-62, XP002065475 see the whole document -----	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/00085

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 652232 A	10-05-1995	CA 2128833 A	03-02-1995
		JP 8099998 A	16-04-1996
		US 5688918 A	18-11-1997
		US 5726024 A	10-03-1998
		US 5747650 A	05-05-1998

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. nates Aktenzeichen

PCT/EP 98/00085

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C07K16/18 G01N33/574 G01N33/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	M. CHEETHAM ET AL.: "Human homologues of the bacterial heat-shock protein DnaJ are preferentially expressed in neurons." THE BIOCHEMICAL JOURNAL, Bd. 284, 1992, LONDON, GB, Seiten 469-476, XP002065472 siehe Zusammenfassung siehe Abbildung 1	1-5
A	U. KURZIK-DUMKE ET AL.: "Tumor suppression in Drosophila is causally related to the function of the lethal (2) tumorous imaginal discs gene, a DnaJ homolog." DEVELOPMENTAL GENETICS, Bd. 16, Nr. 1, 1995, NEW YORK, NY, VSA, Seiten 64-76, XP002065473 siehe das ganze Dokument	1-5

-/-

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
 - "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
 - "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
 - "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
 - "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
 - "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

20. Mai 1998

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

08.07.1998

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentkan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Nooij, F

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Anales Aktenzeichen

PCT/EP 98/00085

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	U. KURZIK-DUMKE ET AL.: "Genetic, cytogenetic and developmental analysis of the Drosophila melanogaster tumor suppressor gene lethal (2) tumorous imaginal discs (1(2)tid)." DIFFERENTIATION, Bd. 51, Nr. 2, Oktober 1992, LONDON, GB, Seiten 91-104, XP002065474 siehe das ganze Dokument ---	1-5
A	EP 0 652 232 A (HEALTH RESEARCH INC) 10.Mai 1995 siehe das ganze Dokument ---	1-5
P,X	U. KURZIK-DUMKE ET AL.: "A preliminary study of the expression of the human hTid protein, a homolog of the Drosophila melanogaster tumor suppressor Tid56, in various tumors." THE CANCER JOURNAL, Bd. 10, Nr. 1, 1997, VILLEJUIF, FRANKREICH, Seiten 56-62, XP002065475 siehe das ganze Dokument -----	1-5

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern. .ales Aktenzeichen

PCT/EP 98/00085

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 652232 A	10-05-1995	CA 2128833 A	03-02-1995
		JP 8099998 A	16-04-1996
		US 5688918 A	18-11-1997
		US 5726024 A	10-03-1998
		US 5747650 A	05-05-1998
